

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日:  
2005年10月13日(13.10.2005)

PCT

(10) 国际公布号:  
WO 2005/095438 A1

(51) 国际分类号<sup>7</sup>: C07J 71/00, A61K 31/7048, A61P 3/06, A61P 9/10, A61P 9/12

(21) 国际申请号: PCT/CN2005/000364

(22) 国际申请日: 2005年3月22日(22.03.2005)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
200410026557.9 2004年3月22日(22.03.2004) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 深圳中药及天然药物研究中心(SHENZHEN RESEARCH CENTER OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINES & NATURAL PRODUCTS) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区西丽大学城清华校区L栋309-315, Guangdong 518055 (CN)。

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 姚新生(YAO, Xinsheng) [CN/CN]; 李连达(LI, Lianda) [CN/CN]; 王乃利(WANG, Naili) [CN/CN]; 张荣利(ZHANG, Rongli) [CN/CN]; 陈海峰(CHEN, Haifeng) [CN/CN]; 沈平(SHEN, Ping) [CN/CN]; 曲戈霞(QU, Gexia) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区西丽大学城清华校区L栋309-315, Guangdong 518055 (CN)。

(74) 代理人: 深圳市顺天达专利商标代理有限公司(STANDARD PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.); 中国广东省深圳市深南大道1056号银座国际大厦810-815室, Guangdong 518040 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

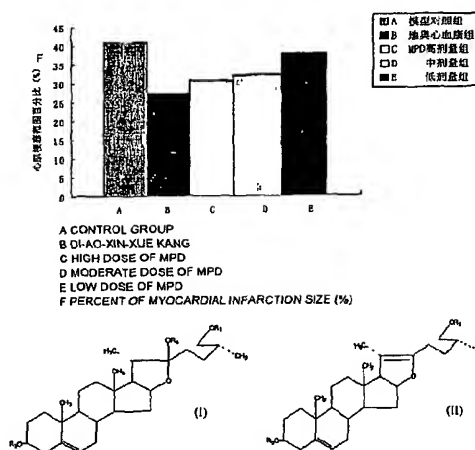
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:  
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参看刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: SAPONINS, THE PREPARATION AND THE USE OF THE SAME

(54) 发明名称: 皂苷类化合物及其制备和应用



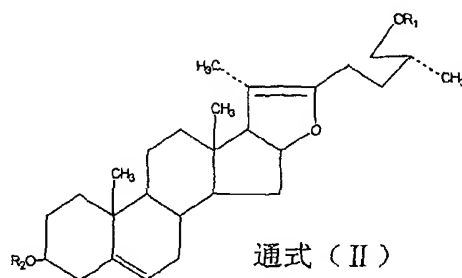
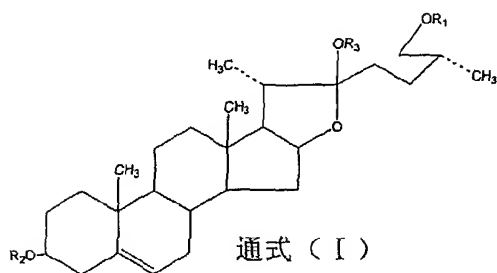
(57) Abstract: The present invention relates to steroidal saponins, the preparation thereof, and the use of the same in prevention of cardio-vascular diseases of myocardial infarction or the like. The chemical formula of such steroidal saponins is the following general formula (I) or (II). In the invention, such steroidal saponins of formula (I) or (II) can be isolated from traditional Chinese medicines and natural products by several methods of isolation, or be obtained by synthesis and semi-synthesis. The oral or non-oral formulations can be formulated by conventional methods using single compound or the mixture of such compounds in the different proportion. Such formulations can be used for prevention of many cardio-vascular diseases of myocardial infarction, coronary heart disease, angina pectoris, arrhythmia, myocardial ischemia, hypertension, hyperlipidemia and blood viscous or the like. In the general formula (I) or (II),  $R_1 = \beta$ -D-glucose;  $R_2 =$  linear sugar chain or branched sugar chain;  $R_3 = H$  or  $CH_3$ .

[见续页]



## (57) 摘要

本发明涉及甾体皂苷类化合物、其制备方法、及其在防治心肌梗塞等心血管疾病中的应用。所述甾体皂苷类化合物的化学式可为如下通式(I)或(II)，本发明中，利用多种分离手段，从中药及天然药物中提取分离，或者通过合成以及半合成手段获得具有通式(I)和(II)的甾体皂苷类化合物。采用单体化合物或者不同比例组成的混合物，按照常规方法制成口服或者非口服制剂，用于防治心肌梗塞，冠心病，心绞痛，心率不齐，心肌缺血，高血压，高血脂，血液粘稠等多种心血管疾病。通式(I)，(II)中： $R_1 = \beta\text{-D-葡萄糖}$ ； $R_2 =$ 直链糖链或支链糖链； $R_3 = \text{H}$  或  $\text{CH}_3$ 。



## 皂苷类化合物以及其制备和应用

### 技术领域

本发明涉及甾体皂苷类化合物，特别涉及 Methylprotodioscin(简称 MPD, 中文名为甲基原薯蓣皂苷)与 Pseudoprotodioscin(简称 PPD, 中文名为伪原薯蓣皂苷)，以及两者在防治心肌梗塞等心血管疾病中的应用。

### 背景技术

由中国成都地奥制药集团生产的“地奥心血康”，具有扩张冠脉血管，改善大鼠心肌缺血的作用，主要用于治疗冠心病，是现在市售最好的防治心脑血管疾病的中药制剂之一。文献报道其中主要含有甾体皂苷类化学成分<sup>[1]</sup>，中国药典 2000 年版规定采用薄层层析(TLC)与原料药材穿山龙或者黄山药对照进行鉴别，含量测定则采取酸水解法将总皂苷水解后用重量法测定总皂苷元的重量<sup>[2]</sup>。有关单一呋甾皂苷类化合物以及两个单体呋甾皂苷类化合物以不同比例组成的混合物是否对心肌梗塞有缓解作用，未见文献报道，也未检索到相关专利。

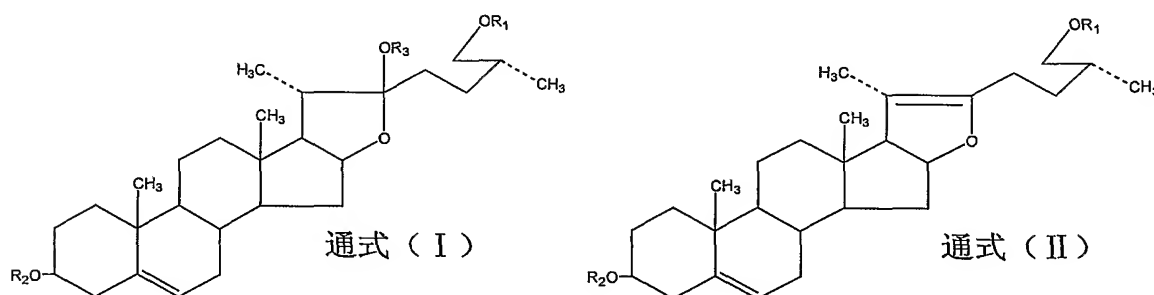
#### 参考文献:

- [1] 李伯刚, 周正质. 新药与临床. 1994. 3(13): 210003      2002. 4
- [2] 中华人民共和国药典(2000 版, 一部)
- [3] 胡柯, 三种抗癌中草药的活性成分研究(沈阳药科大学博士论文, 1998)
- [4] 沈平, 圆果三角叶薯蓣和弯蕊开口箭活性成分的研究(沈阳药科大学博士论文, 2002)
- [5] 刘宏伟, 海绵、福州薯蓣和齿叶黄杞的化学成分及抗癌活性研究(沈阳药科大学博士论文, 2002)
- [6] Hu, k., Dong, A. J., Yao, X. S., Et al., Antineoplastic Agents II. Four Furostanol Glycosides from Rhizomes of *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca*, *Planta Med.*, 1997, 63, 161-165
- [7] Hu, k., Dong, A. J., Yao, X. S., Et al., A Furostanol Glycoside from *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca*, *Phytochemistry*, 1997, 44(7), 1339-1342
- [8] Hu, k., Yao, X. S., Methyl protogracillin (NSC-698792): the spectrum of cytotoxicity against 60 human cancer cell lines in the National Cancer Institute's anticancer drug screen panel, *Anti-Cancer Drugs*, 2001, 12(6), 541-547

- [9] Liu, H.W., Kobayshi, H, Qu, G.X., Yao, X.S. A new furostanol saponin from *Dioscorea futshauensis*. *Chin. Chem. Lett.*, 2002, 13(3), 241-244.
- [10] Maosheng Cheng, Qianli Wang, Quan Tian, Hongyan Song, Yongxiang Liu, Qiang Li, Xin Xu, Hongdong Miao, Xinsheng Yao, and Zhen Yang. Total Synthesis of Methyl Protodioscin: A Potent Agent with Anti-tumor Activity. *J. Org. Chem.*

## 发明内容

本发明涉及通式为 (I) 或 (II) 的甾体皂苷类化合物在防治心肌梗塞等心血管疾病中的新用途。



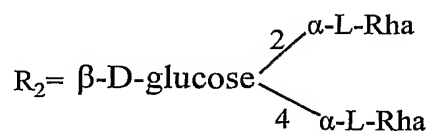
上述通式中,  $R_1 = \beta\text{-D-葡萄糖}$ ;

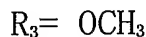
$R_2 =$ 直链糖链或支链糖链, 其糖链组成糖的类型包括 $\beta\text{-D-葡萄糖}$ 、 $\alpha\text{-D-葡萄糖}$ 、 $\alpha\text{-L-鼠李糖}$ 、 $\beta\text{-D-半乳糖}$ 、 $\alpha\text{-D-半乳糖}$ 、 $\beta\text{-D-甘露糖}$ 、 $\alpha\text{-D-甘露糖}$ 、 $\beta\text{-D-阿拉伯糖}$ 、 $\alpha\text{-D-阿拉伯糖}$ 、 $\beta\text{-D-木糖}$ 、 $\alpha\text{-D-木糖}$ 、 $\beta\text{-D-核糖}$ 、 $\alpha\text{-D-核糖}$ 、 $\beta\text{-D-来苏糖}$ 、 $\alpha\text{-D-来苏糖}$ 、 $\alpha\text{-D-夫糖}$ 以及上述各个六碳醛糖相对应的 6-去氧糖及 2, 6-二去氧糖。

$R_3 = \text{H 或 } \text{CH}_3$

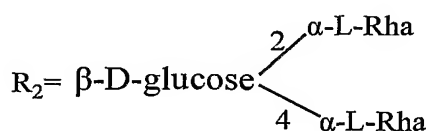
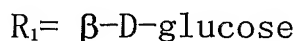
通式为 (I) 的甾体皂苷类化合物 Methylprotodioscin (MPD) 在防治心肌梗塞等心血管疾病中的应用, 其结构为通式 (I) 中:

$R_1 = \beta\text{-D-glucose}$





通式为 (II) 的甾体皂苷类化合物 Pseudoprotodioscin (PPD) 在防治心肌梗塞等心血管疾病中的应用, 其结构为通式 (II) 中,



本发明以薯蓣属植物为原料, 通过多种分离方法, 纯化精制得到单体化合物 MPD 和 PPD。将二者分别以单体形式或者以不同比例组成的混合物形式, 对大鼠以及犬进行抗急性心肌梗塞的药理实验。结果表明, MPD、PPD, 以及两者按不同比例组成的混合物, 均可有效地减少心肌梗塞范围, 提示具有明显的治疗冠心病的作用和良好的研究开发前景。

### 附图说明

图 1 为本发明 MPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响;

图 2 为本发明重复实验 MPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响;

图 3 为本发明 MPD 对犬心肌梗塞范围的影响;

图 4 为本发明各给药组犬急性心肌缺血程度 (N-ST) 的比较 (心外膜电图标测);

图 5 为本发明各给药组犬急性心肌缺血范围 ( $\Sigma$ -ST) 的比较 (心外膜电图标测);

图 6 为本发明给药组犬冠脉流量变化比较;

图 7 为本发明给药组犬心肌耗氧量变化比较;

图 8 为本发明 MPD 相关各组梗塞面积百分比。

## 具体实施方式

申请人以薯蓣属多种植物为原料，通过多种分离方法，纯化精制得到 Methylprotodioscin (MPD)、Pseudoprotodioscin (PPD) 以及其他多种具有上列结构通式 (I) 或 (II) 的呋甾皂苷类化合物纯品<sup>[3-9]</sup>，并用合成方法合成了其中的 MPD<sup>[10]</sup>。随后通过薄层层析 (TLC) 和高效液相色谱 (HPLC) 对照，确认在地奥心血康中也存在 MPD 及 PPD 等呋甾皂苷类化学成分。考虑到地奥心血康的临床应用特点，我们决定将上述单一呋甾体皂苷类化合物 MPD、PPD 及两者不同比例的混合物，与地奥心血康对照，采用大鼠及犬心肌梗塞动物模型进行试验，探讨并比较它们的作用，发现 MPD、PPD 以及两者以不同比例组成的呋甾皂苷类混合物对因人工结扎造成的大鼠及犬心肌梗塞模型均有明显的缓解效果，与地奥心血康相比没有统计学差异。

### 实施例 1：甾体皂苷类化合物 MethylProtodioscin (MPD) 的提取分离

取薯蓣属植物穿龙薯蓣 (*Discorea nipponica*) 的新鲜根茎 70 kg，用 80%乙醇加热回流提取，浓缩提取液，所得提取物混悬于水中，得到水溶解部分和水不溶解部分。将水溶解部分通过 D101 大孔吸附树脂柱，先用水洗脱，然后分别用 10%、50%及 95%乙醇洗脱。50%乙醇洗脱液蒸发浓缩后，再经硅胶柱层析 (200-300 目)，以氯仿-甲醇-水 (8: 2.5: 0.01) 至甲醇梯度洗脱，洗脱液减压回收，合并馏分 46~50 所析出的结晶并进行重结晶得到化合物 MPD (192.6g)。

### 实施例 2：甾体皂苷类化合物 Pseudoprotodioscin (PPD) 的提取分离

取薯蓣属植物福州薯蓣 (*Discorea futschauensis*) 的根茎 3 kg, 用 75% 乙醇加热回流提取, 浓缩提取液, 所得提取物混悬于 3000ml 水中, 用等体积的水饱和正丁醇萃取两次, 萃取液蒸发浓缩后, 再经硅胶柱层析 (200-300 目), 以氯仿-甲醇-水 (8: 2: 0.1) 至甲醇梯度洗脱, 洗脱液减压回收, 合并馏分 8~17, 再通过 ODS 柱层析, 以甲醇-水 (1: 1; 65: 35; 80: 20) 梯度洗脱, 收集 65% 甲醇洗脱部分, 经 Rp-18 高效液相制备 (70% 甲醇), 收集 40 分钟左右出现的色谱峰, 减压干燥得到化合物 Pseudoprotodioscin (100mg)。

**实施例 1、2 中甾体皂苷类化合物 MethylProtodioscin(MPD) 和 Pseudoprotodioscin(PPD) 的理化常数:**

化合物 Methyl Protodioscin(MPD): 白色粉末, mp230-233°C (dec),  $[\alpha]_D^{25} -88.7^\circ$  (c:0.80 pyridine)。Liebermann-Burchard、Molish 和 Ehrlich 反应均呈阳性。酸水解检出葡萄糖和鼠李糖。IRmax: 3400-3450 (OH), 2950, 1380, 1040 (glycosylC-O)。FAB-MS: 1085 (M+Na)<sup>+</sup>, 1062 (M+H)<sup>+</sup>, 1031 (M+H-CH<sub>3</sub>OH)<sup>+</sup>, 869 (M+H-CH<sub>3</sub>OH-Glc)<sup>+</sup>, 723 (M+H-CH<sub>3</sub>OH-Glc-Rha)<sup>+</sup>, 577 (M+H-CH<sub>3</sub>OH-Glc-Rha×2)<sup>+</sup>, 415 (M+H-CH<sub>3</sub>OH-Glc×2-Rha×2)<sup>+</sup>, 397 (M+H-CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O-Glc×2-Rha×2)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 0.87 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 0.98 (3H, d, CH<sub>3</sub>-27), 1.08 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 1.03 (3H, d, CH<sub>3</sub>-21), 1.26 (3H, d, J=6.2Hz), 1.28 (3H, d, J=6.2Hz)。<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 2。

化合物 Pseudoprotodioscin(PPD): 白色粉末, mp174-176°C (dec),  $[\alpha]_D^{25} -64.1^\circ$  (c:0.003pyridine)。Liebermann-Burchard、Molish 和 Ehrlich 反应均呈阳性。酸水解检出葡萄糖和鼠李糖。IRmax: 3420 (OH), 2940 (CH), 1645, 1450, 1375, 1335, 1225, 1115, 1070, 1045, 920, 890。

ESI-MS: 1053 (M+Na)<sup>+</sup>, 1029 (M-H)<sup>-</sup>, 883 (M-H-146)<sup>-</sup>, 737 (M-H-146×2)<sup>-</sup>。

<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ : 0.72 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.01 (3H, d, J=

6.6Hz, CH<sub>3</sub>-27), 1.05 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 1.63 (3H, s,

CH<sub>3</sub>-21), 1.62 (3H, d, J=6.0Hz), 1.76 (3H, d, J=6.3Hz), 4.83 (1H, d, J=7.5Hz), 4.

94 (1H, d, J=6.6Hz), 5.32 (1H, brs, H-6), 5.85 (1H, s), 6.39 (1H, s)。<sup>13</sup>C-NMR 数据

见表 1:

表 1 Pseudoprotodioscin (PPD) 的 <sup>13</sup>C-NMR 数据 (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

| No. | Aglycone moiety | No.         | Sugar moiety |
|-----|-----------------|-------------|--------------|
| 1   | 38.0            | Glc (inner) |              |
| 2   | 30.7            | 1           | 100.8        |
| 3   | 78.5            | 2           | 79.0         |
| 4   | 39.5            | 3           | 77.5         |
| 5   | 141.3           | 4           | 79.1         |
| 6   | 122.3           | 5           | 78.3         |
| 7   | 32.9            | 6           | 62.8         |
| 8   | 32.0            | Rha (1-2)   |              |
| 9   | 50.8            | 1           | 102.5        |
| 10  | 37.6            | 2           | 73.0         |
| 11  | 21.8            | 3           | 73.3         |
| 12  | 40.1            | 4           | 74.6         |
| 13  | 43.9            | 5           | 70.0         |
| 14  | 55.4            | 6           | 19.1         |
| 15  | 35.0            | Rha (1-4)   |              |
| 16  | 85.0            | 1           | 103.4        |
| 17  | 65.0            | 2           | 73.0         |
| 18  | 14.6            | 3           | 73.3         |
| 19  | 19.9            | 4           | 74.4         |
| 20  | 104.1           | 5           | 70.9         |
| 21  | 12.3            | 6           | 19.0         |
| 22  | 152.9           | Glc (-26)   |              |
| 23  | 34.0            | 1           | 105.4        |
| 24  | 24.2            | 2           | 75.7         |
| 25  | 32.0            | 3           | 79.1         |
| 26  | 75.5            | 4           | 72.2         |
| 27  | 17.9            | 5           | 78.5         |
|     |                 | 6           | 63.4         |

<sup>a</sup> Recorded on a Bruker-300 (75 MHz for <sup>13</sup>C) NMR spectrometer.

表 2 MPD 的  $^{13}\text{C}$ -NMR 数据 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

| Aglycone moiety      |       | Sugar moiety |       |
|----------------------|-------|--------------|-------|
| Position             |       | Position     |       |
| 1                    | 37.2  | Glc(inner)   |       |
| 2                    | 30.2  | 1            | 100.3 |
| 3                    | 78.2  | 2            | 78.0  |
| 4                    | 39.0  | 3            | 78.2  |
| 5                    | 140.9 | 4            | 78.7  |
| 6                    | 121.9 | 5            | 77.0  |
| 7                    | 32.2  | 6            | 61.4  |
| 8                    | 31.7  | Rha(1→2)     |       |
| 9                    | 50.4  | 1            | 102.1 |
| 10                   | 37.6  | 2            | 72.6  |
| 11                   | 21.1  | 3            | 72.8  |
| 12                   | 40.5  | 4            | 74.2  |
| 13                   | 40.8  | 5            | 69.6  |
| 14                   | 56.6  | 6            | 18.6  |
| 15                   | 32.4  | Rha(1→4)     |       |
| 16                   | 81.4  | 1            | 103.0 |
| 17                   | 64.2  | 2            | 72.6  |
| 18                   | 16.3  | 3            | 72.9  |
| 19                   | 19.5  | 4            | 74.0  |
| 20                   | 40.8  | 5            | 70.5  |
| 21                   | 16.3  | 6            | 18.7  |
| 22                   | 112.7 | 26-O-Glc     |       |
| 23                   | 30.9  | 1            | 105.0 |
| 24                   | 28.2  | 2            | 75.3  |
| 25                   | 34.3  | 3            | 78.6  |
| 26                   | 75.3  | 4            | 71.8  |
| 27                   | 17.2  | 5            | 78.7  |
| 22-O-CH <sub>3</sub> | 47.3  | 6            | 63.0  |

<sup>a</sup> Recorded on a Bruker-500 (125 MHz for  $^{13}\text{C}$ ) NMR spectrometer.

### 实施例 3：甾体皂苷类化合物 MPD 对大鼠、犬急性心肌梗塞的影响：

**目的：**探讨 MPD 注射剂对急性心肌梗塞的疗效及作用机制。**方法：**采用冠状动脉结扎急性心肌梗塞模型，观察 MPD 注射剂对大鼠和犬心肌梗塞范围、冠脉流量和心肌耗氧量等指标的影响。**结果：**MPD 注射剂可减小实验大鼠和犬心

肌梗塞范围，改善心脏功能等作用。结论：MPD 注射剂对心肌梗塞明显的治疗作用。

关键词：MPD 心肌梗塞

MPD 属皂苷类单体化合物，本实验观测 MPD 对于实验性心肌梗塞的疗效及机制。

## 1 实验材料

### 1.1 实验动物

Wistar 大鼠，雄性，体重 ( $200 \pm 20\text{g}$ )，由北京市通利实验动物养殖厂提供 [京物许字 (2000) 第 010 号]。

健康成年杂种犬 6 只，体重 ( $15.05 \pm 0.80\text{kg}$ )，雌雄兼用，由北京市通利实验动物养殖厂提供 [京动许字 (2000) 第 010 号]。

### 1.2 药物与试剂

MPD：深圳中药与天然药物研究中心姚新生院士提供。

0.9%氯化钠注射液：北京双鹤药业股份有限公司提供，批号：030208612。

地奥心血康：成都地奥制药集团有限公司提供，批号：0208096。

盐酸地尔硫卓片：天津田边制药有限公司提供，批号：0003003。

硝基四氮唑蓝 (N-BT)：购自解放军军事医学科学院药材供应站，批号：971120。

### 1.3 主要仪器

多道生理记录仪 (RM-6000 型，日本光电)；电动呼吸机 (SC-3 型，上海)；电磁流量计 (MF-1100 型，日本光电)；压力换能器 (MPU-0.5A)；载波放大器 (AP-601G)；微分器 (ED-601G)；血氧仪 (AVL912 型，瑞士)。多媒体彩色病理图像分析系统，MPIAS-500 型。

## 2 实验方法

### 2.1 心肌梗塞模型造模型方法

3.5%水合氯醛按 10ml/kg 体重将大鼠麻醉，接呼吸机，备皮，打开胸腔，分开心包膜，暴露心脏，结扎冠状动脉左前降支根部。

3%戊巴比妥钠按 1ml/kg 将犬麻醉，开胸，暴露心脏，做心包床，放置心外膜电极，结扎冠状动脉左前降支。股静脉插管给药，颈动脉插管、颈外静脉插管至冠状静脉窦，分别取血测动静脉血氧含量。

### 2.2 分组

2.2.1 预实验将 20 只大鼠随机分为模型对照组（尾静脉注射生理盐水 3ml/kg）和 MPD 组（40mg / kg），每组 10 只。

2.2.2 重复实验将 50 只大鼠随机分为模型对照组（尾静脉给生理盐水 3ml/kg），地奥心血康组（灌胃给药 40mg / kg），MPD 高剂量组（尾静脉注射 80mg/kg）、中剂量组（40mg / kg）、低剂量组（20mg / kg）5 组，每组 10 只。造模成功后 30 分钟给药 1 次，24 小时后处死动物，观测结果。

2.2.3 犬 6 只，随机分模型对照组（股静脉给药生理盐水 1ml/1kg），阳性药对照组（盐酸地尔硫卓注射液 0.5mg/kg），MPD 组（股静脉给 20mg/kg）三组，每组 2 只。测药前、给药即刻和药后 5、15、30、60、120、180min，N-ST、 $\Sigma$ -ST，冠状静脉窦及动脉血氧含量以及心梗范围等数据。

### 2.3 观测指标：

心外膜电图：N-ST 和  $\Sigma$ -ST 的变化

心肌梗塞范围测定（N-BT 染色法）：动物处死后，立即取下心脏，生理盐水冲洗，用滤纸吸去水分，在结扎线以下，从心尖起平行切成等厚 4 片，置于硝基四氮唑蓝染液中，常温避光 2 分钟，用多媒体彩色病理图像分析系统测量

每个切片的面积、心肌梗塞面积 (N-BT 非染色区), 计算心室肌总面积、心室肌梗塞总面积, 计算心肌梗塞面积/心室面积 (%)。

## 2.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 进行统计处理, 数据以  $\bar{X} \pm SD$  表示。

## 3 实验结果

### 3.1 预实验 MPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响

如表 1、图 1 示: 模型对照组心肌梗塞范围达心室的  $41.20 \pm 12.25$  (%), 表明造模成功; MPD 组心肌梗塞范围达心室的  $33.4 \pm 8.09$  (%), 与模型对照组比较有显著性差异。

表 1 预实验对大鼠心肌梗塞范围的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )

| 分 组   | 例 数 | 剂 量 (/kg) | 心肌梗塞面积/心室面积 (%)       |
|-------|-----|-----------|-----------------------|
| 模型对照组 | 10  | 3ml       | $41.20 \pm 12.25$     |
| MPD 组 | 10  | 40mg      | $33.40 \pm 8.09^{**}$ |

注: 与模型对照组比较 \*\*  $P < 0.01$

### 3.2 重复实验 MPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响

如表 2、图 2 所示: 模型对照组心肌梗塞范围达心室的  $40.99 \pm 6.64$  (%), 表明造模成功; 地奥心血康组心肌梗塞范围为心室的  $27.24 \pm 10.24$  (%); MPD 组心肌梗塞范围减小, 与模型对照组相比, 高剂量组 ( $30.62 \pm 9.46\%$ ) 有极显著性差异, 中剂量组 ( $32.32 \pm 6.92\%$ ) 有显著性差异, 低剂量组 ( $37.89 \pm 8.41\%$ ) 有减小趋势, 但无统计学意义。

表 2 重复实验对大鼠心肌梗塞范围的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )

| 分 组 | 例 数 | 剂量 (/kg) | 心肌梗塞面积/心室面积 (%) |
|-----|-----|----------|-----------------|
|-----|-----|----------|-----------------|

|          |    |      |               |
|----------|----|------|---------------|
| 模型对照组    | 10 | 3ml  | 40.99±6.64    |
| 地奥心血康组   | 10 | 40mg | 27.24±10.24** |
| MPD 高剂量组 | 10 | 80mg | 30.62±9.46**  |
| MPD 中剂量组 | 10 | 40mg | 32.32±6.92*   |
| MPD 低剂量组 | 10 | 20mg | 37.89±8.41    |

注：与模型对照组比较 \* P<0.05 \*\* P<0.01

### 3.3 MPD 对犬心肌梗塞范围的影响

如表3、图3所示：模型对照组心肌梗塞范围梗塞区/心脏为6.45±1.03(%)、梗塞区/心室 16.21±1.00(%)，MPD 组心肌梗塞范围梗塞区/心脏 2.74±0.33(%)、梗塞区/心室 7.30±0.97(%)，两组比较有显著差异。盐酸地尔硫草组较模型对照组亦有明显差异。

表3 对犬心肌梗塞范围的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )

| 分 组     | 例 数 | 剂量(/kg) | 梗塞区/心脏(%)   | 梗塞区/心室(%)   |
|---------|-----|---------|-------------|-------------|
| 模型对照组   | 2   | 1ml     | 6.45±1.03   | 16.21±1.00  |
| 盐酸地尔硫草组 | 2   | 0.5mg   | 1.81±0.79** | 4.36±1.15** |
| MPD 组   | 2   | 20mg    | 2.74±0.33** | 7.30±0.97** |

注：与模型对照组比较 \*\* P<0.01

### 3.4 MPD 对犬心外膜电图的影响

如图4、5示：MPD组对N-ST的影响与对照组比较未见明显变化。但两治疗组Σ-ST均有减少，与对照组比较有显著性差异。

### 3.5 MPD 对犬冠脉流量及心肌耗氧量的影响

如图6、7示：MPD组对冠脉流量及心肌耗氧量未见明显影响，与对照组比较无明显差异。

## 4 讨 论

地奥心血康有扩张冠脉血管，改善心肌缺血的作用，常用于治疗冠心病，为本实验的阳性对照药。MPD属皂苷类化合物，两次实验的结果表明：MPD对

冠状动脉结扎大鼠心肌梗塞有改善作用，MPD 高剂量组心梗范围减小，较模型对照组有极显著性差异，中剂量组有显著性差异，低剂量组则有下降趋势。高、中、低剂量组对于心肌梗塞范围的影响有量效趋势。实验还表明：地奥心血康组对大鼠心肌梗塞亦有改善作用，两药比较未见显著性差异。犬心肌梗塞实验也表明：MPD 静脉给药有明确治疗心肌梗塞作用。

实施例 4：甾体皂苷类化合物 PPD 对大鼠急性心肌梗塞的影响：

目的：研究 PPD 对急性心肌梗塞的治疗作用。方法：采用结扎冠脉造成急性心肌梗塞模型，观察 PPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响。结果：PPD、MPD 对心肌梗塞范围有明显的影响。结论：MPD、PPD 可减小实验大鼠心肌梗塞范围 ( $P<0.05$ )，MPD 略优于 PPD。

## 1 实验材料

### 1.1 实验动物

Wistar 大鼠，雄性，体重 ( $170\pm 20\text{g}$ )，由北京市通利实验动物养殖厂提供 [京物许字 (2000) 第 010 号]。

### 1.2 药物与试剂

MPD、PPD：深圳中药与天然药物研究中心姚新生院士提供。

0.9%氯化钠注射液：北京双鹤药业股份有限公司提供，批号：030208612。

硝基四氮唑蓝 (N-BT)：购自解放军军事医学科学院药材供应站，批号：971120。

### 1.3 主要仪器

电动呼吸机 (SC-3 型，上海)；多媒体彩色病理图像分析系统，MPIAS-500 型。

## 2 实验方法

### 2.1 心肌梗塞模型造模型方法

3. 5%水合氯醛按 10ml/kg 体重将大鼠麻醉，接呼吸机，备皮，打开胸腔，分开心包膜，暴露心脏，结扎冠状动脉左前降支根部。

### 2.2 分组

2.2.1 实验一：将 12 只大鼠随机分为模型对照组（灌服生理盐水 5ml/kg）和 PPD 组（灌胃给药 40mg/5ml/kg）。结扎后给药 1 次，24 小时后处死动物，观测结果。

2.2.2 实验二（重复实验）：将 24 只大鼠随机分为模型对照组（灌服生理盐水 5ml/kg）、MPD、PPD 组（灌胃给药 40mg/5ml/kg）。结扎后给药 1 次，24 小时后处死动物，观测结果。

### 2.3 观测指标：

心肌梗塞范围测定（N-BT 染色法）：动物处死后，立即取下心脏，生理盐水冲洗，用滤纸吸去水分，在结扎线以下，从心尖起平行切成等厚 5 片，置于硝基四氮唑蓝染液中，常温避光 2 分钟，用多媒体彩色病理图像分析系统测量每个切片的面积、心肌梗塞面积（N-BT 非染色区），计算心室肌总面积、心室肌梗塞总面积，计算心肌梗塞面积/心脏总面积（%）。

### 2.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 进行统计处理，数据以  $\bar{X} \pm SD$  表示。

## 3 实验结果

### 3.1 实验一：PPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响

如表 1 所示：模型对照组心肌梗塞范围达心室的  $42.48 \pm 3.88$ （%），表明造模成功，PPD 组心肌梗塞范围为心室的  $36.25 \pm 7.20$ （%），二者与模型对照

组相比, 有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

表 1 MPD、SPR 和 PPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )

| 分 组   | 例 数 | 剂 量 (/kg) | 心肌梗塞面积/心室面积 (%) |
|-------|-----|-----------|-----------------|
| 模型对照组 | 6   | 5ml       | 42.48 ± 3.88    |
| PPD 组 | 6   | 40mg      | 36.25 ± 7.20*   |

注: 与模型对照组比较 \*  $P < 0.05$

### 3.1 实验二 MPD、PPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响 (重复实验)

如表 2 所示, 重复实验中可以看出, MPD、PPD 皆可明显减少心肌梗塞范围, 其中以 MPD 有更明显的减少心肌梗塞面积作用, 术中死亡率更低。

表 2 MPD、PPD 对大鼠心肌梗塞范围的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )

| 分 组   | 例数 | 剂 量 (/kg) | 梗塞面积/全心面积 (%)  | 术中死亡率       |
|-------|----|-----------|----------------|-------------|
| 模型对照组 | 9  | 5ml       | 41.06 ± 4.98   | 55.6% (5/9) |
| MPD 组 | 8  | 40mg      | 33.71 ± 6.73** | 0% (0/8)    |
| PPD 组 | 7  | 40mg      | 36.31 ± 1.90*  | 14.3% (1/7) |

注: 与模型对照组比较 \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

## 4 结 论

实验一结果表明: PPD 对大鼠心肌梗塞有改善作用, 较模型对照组有显著性差异。为进一步验证实验结果, 进行了实验二, 并增加了 MPD 组。结果表明: MPD 和 PPD 灌胃给药皆可使心肌梗塞范围减小, 较模型对照组有显著性差异; MPD 略优于 PPD。

实施例 5: 甾体皂苷类化合物 MPD、PPD 不同比例组成的混合物对大鼠急性心肌梗塞的影响

目的: 研究 MPD 与 PPD 合用对急性心肌梗塞的协同治疗作用。方法: 采用结扎冠脉造成急性心肌梗塞模型, 观察 MPD、PPD 按一定配比合用后对大鼠心肌梗塞范围的影响。结果: MPD、PPD 合用较单用对心肌梗塞有更好的作用。

结论：MPD、PPD 合用有协同作用。

## 1 实验材料

### 1.1 实验动物

Wistar 大鼠，雄性，体重 ( $170 \pm 20\text{g}$ )，由北京市通利实验动物养殖厂提供 [京物许字 (2000) 第 010 号]。

### 1.2 药物与试剂

MPD、PPD：深圳中药与天然药物研究中心姚新生院士提供，MPD+PPD 合用两者的比例为 1 : 1

0.9%氯化钠注射液：北京双鹤药业股份有限公司提供；批号：030208612。

硝基四氮唑蓝 (N-BT)：购自解放军军事医学科学院药材供应站，批号：971120。

### 1.3 主要仪器

电动呼吸机 (SC-3 型，上海)，多媒体彩色病理图像分析系统，MPIAS-500 型。

## 2 实验方法

### 2.1 心肌梗塞模型造模型方法

3.5%水合氯醛按  $10\text{ml/kg}$  体重将大鼠麻醉，接呼吸机，备皮，打开胸腔，分开心包膜，暴露心脏，结扎冠状动脉左前降支根部。

### 2.2 分组

将 33 只大鼠随机分为模型对照组 (灌服生理盐水  $5\text{ml/kg}$ ) 和 MPD、PPD 组和 MPD+PPD 组 (灌胃给药  $40\text{mg}/5\text{ml/kg}$ )。结扎后给药 1 次，24 小时后处死动物，观测结果。

## 2.3 观测指标

心肌梗塞范围测定 (N-BT 染色法): 动物处死后, 立即取下心脏, 生理盐水冲洗, 用滤纸吸去水分, 在结扎线以下, 从心尖起平行切成等厚 5 片, 置于硝基四氮唑蓝染液中, 常温避光 2 分钟, 用多媒体彩色病理图像分析系统测量每个切片的面积、心肌梗塞面积 (N-BT 非染色区), 计算心室肌总面积、心室肌梗塞总面积, 计算心肌梗塞面积/心脏总面积 (%)。

## 2.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 进行统计处理, 数据以  $\bar{X} \pm SD$  表示。

## 3 实验结果

如表 1、图 1 所示: 模型对照组心肌梗塞范围达心室的  $41.06 \pm 1.66$  (%), 表明造模成功; MPD 组心肌梗塞范围为心室的  $36.24 \pm 3.74$  (%), PPD 组心肌梗塞范围为心室的  $36.31 \pm 1.90$  (%), 二者与模型对照组相比, 有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 其中又以 MPD+PPD 为最好。

表 1 PPD、MPD 合用对大鼠心肌梗塞范围的影响 ( $\bar{X} \pm S$ )

| 组 别     | 动物数 | 剂量 (/kg) | 梗塞面积 (%)           |
|---------|-----|----------|--------------------|
| 模型对照组   | 9   | 5ml      | $41.06 \pm 4.98$   |
| MPD 组   | 8   | 40mg     | $36.24 \pm 3.74^*$ |
| PPD 组   | 7   | 40mg     | $36.31 \pm 1.90^*$ |
| MPD+PPD | 9   | 40mg     | $32.74 \pm 4.90^*$ |

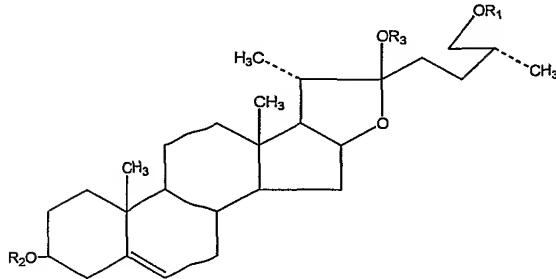
注: 与模型对照组比较 \*  $P < 0.05$

## 4 结 论

MPD、PPD 单用及合用皆有明显的治疗实验性大鼠心肌梗塞的作用, 两者按一定比例合用后可产生协同作用, 在同等剂量下能达到更好的治疗作用。

## 权 利 要 求

1、一种甾体皂苷类化合物，其特征在于，它具有如下化学式：



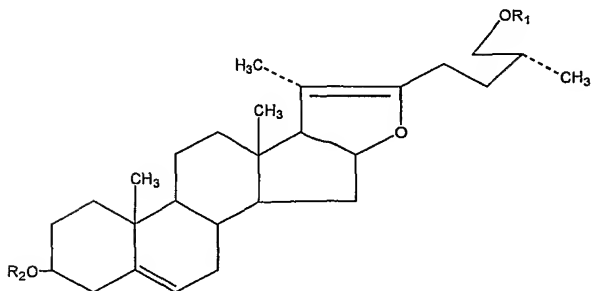
所述化学式中：

$R_1$  为 $\beta$ -D-葡萄糖；

$R_2$  为直链糖链或支链糖链，其糖链组成糖的类型可以是 $\beta$ -D-葡萄糖、 $\alpha$ -D-葡萄糖、 $\alpha$ -L-鼠李糖、 $\beta$ -D-半乳糖、 $\alpha$ -D-半乳糖、 $\beta$ -D-甘露糖、 $\alpha$ -D-甘露糖、 $\beta$ -D-阿拉伯糖、 $\alpha$ -D-阿拉伯糖、 $\beta$ -D-木糖、 $\alpha$ -D-木糖、 $\beta$ -D-核糖、 $\alpha$ -D-核糖、 $\beta$ -D-来苏糖、 $\alpha$ -D-来苏糖、 $\alpha$ -D-夫糖以及上述各个六碳醛糖相对应的 6-去氧糖及 2, 6-二去氧糖；

$R_3$  为 H 或  $CH_3$  。

2、一种甾体皂苷类化合物，其特征在于，它具有如下化学式：

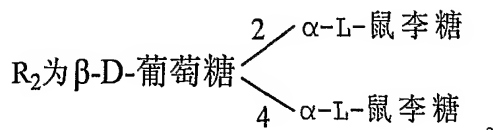


所述化学式中：

$R_1$  为  $\beta$ -D-葡萄糖；

$R_2$  为直链糖链或支链糖链，其糖链组成糖的类型可以是  $\beta$ -D-葡萄糖、 $\alpha$ -D-葡萄糖、 $\alpha$ -L-鼠李糖、 $\beta$ -D-半乳糖、 $\alpha$ -D-半乳糖、 $\beta$ -D-甘露糖、 $\alpha$ -D-甘露糖、 $\beta$ -D-阿拉伯糖、 $\alpha$ -D-阿拉伯糖、 $\beta$ -D-木糖、 $\alpha$ -D-木糖、 $\beta$ -D-核糖、 $\alpha$ -D-核糖、 $\beta$ -D-来苏糖、 $\alpha$ -D-来苏糖、 $\alpha$ -D-夫糖以及上述各个六碳醛糖相对应的 6-去氧糖及 2, 6-二去氧糖。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的甾体皂苷类化合物，其特征在于，所述化学式中：



4、一种制备具有权利要求 1 所述化学式的甾体皂苷类化合物的方法，其特征在于，包括以下步骤：

取薯蓣属植物穿龙薯蓣 (*Discorea nipponica*) 的新鲜根茎，用 80% 的乙醇加热回流提取，浓缩提取液，所得提取物混悬于水中，得到水溶解部分和水不溶解部分；

将所述水溶解部分通过 D101 大孔吸附树脂柱，先用水洗脱，然后分别用 10%、50% 及 95% 乙醇洗脱；

用 50% 乙醇洗脱液蒸发浓缩后，再经硅胶柱层析 (200-300 目)，以氯仿-甲醇-水 (8: 2.5: 0.01) 至甲醇梯度洗脱，洗脱液减压回收，对合并馏分 46~50 所析出的结晶并进行重结晶，即可得到所需化合物 MPD。

5、一种制备具有权利要求 2 所述化学式的甾体皂苷类化合物的方法，其特征在于，包括以下步骤：

取薯蓣属植物福州薯蓣 (*Discorea futschauensis*) 的根茎，用 75%乙醇加热回流提取，浓缩提取液，所得提取物混悬于 3000ml 水中；

用等体积的水饱和正丁醇萃取两次，萃取液蒸发浓缩后，再经硅胶柱层析 (200-300 目)，以氯仿-甲醇-水 (8: 2: 0.1) 至甲醇梯度洗脱；

洗脱液减压回收，合并馏分 8~17, 再通过 ODS 柱层析，以甲醇-水 (1: 1; 65: 35; 80: 20) 梯度洗脱，收集 65%甲醇洗脱部分，经 Rp-18 高效液相制备 (70%甲醇)，收集 40 分钟左右出现的色谱峰，减压干燥，即可得到所需化合物 PPD。

6、具有权利要求 1 或 2 所述化学式的甾体皂苷类化合物的应用，其特征在于，用所述化合物制成相应的制剂，可用于防治心肌梗塞、冠心病、心绞痛、心率不齐、心肌缺血、高血压、高血脂、血液粘稠等多种心血管疾病。

7、具有权利要求 1 和 2 所述化学式的甾体皂苷类化合物的应用，其特征在于，利用所述两种化合物，按适当的比例制成相应的制剂，可用于防治心肌梗塞、冠心病、心绞痛、心率不齐、心肌缺血、高血压、高血脂、血液粘稠等多种心血管疾病。

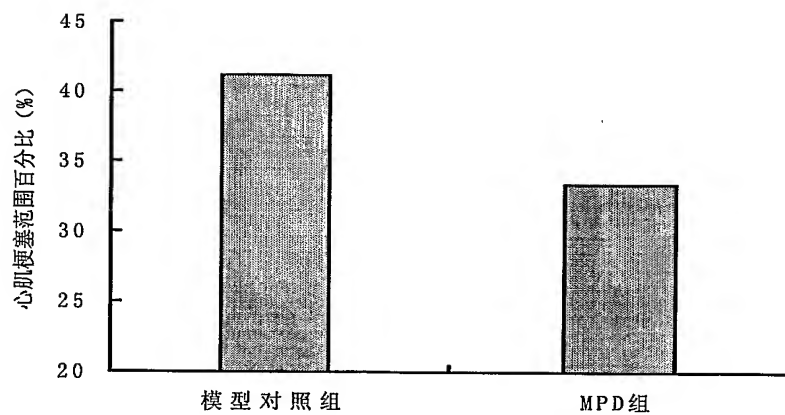


图 1

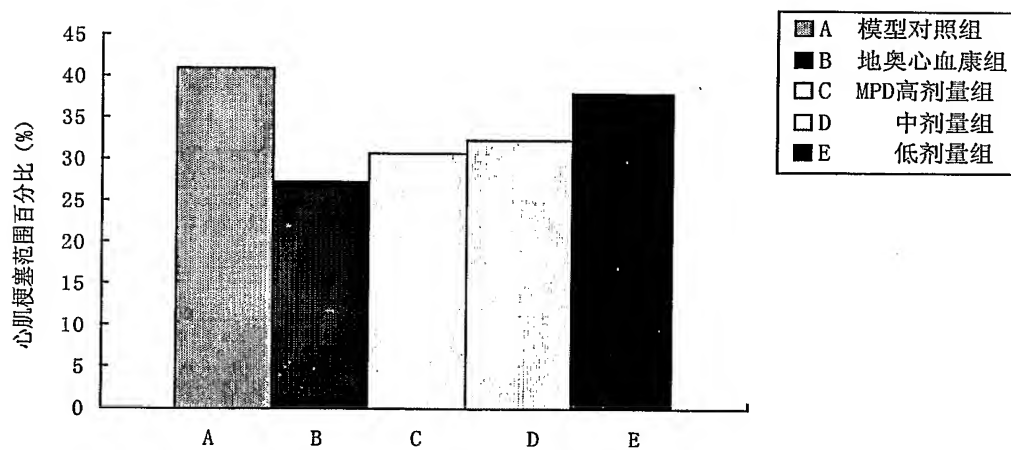


图 2

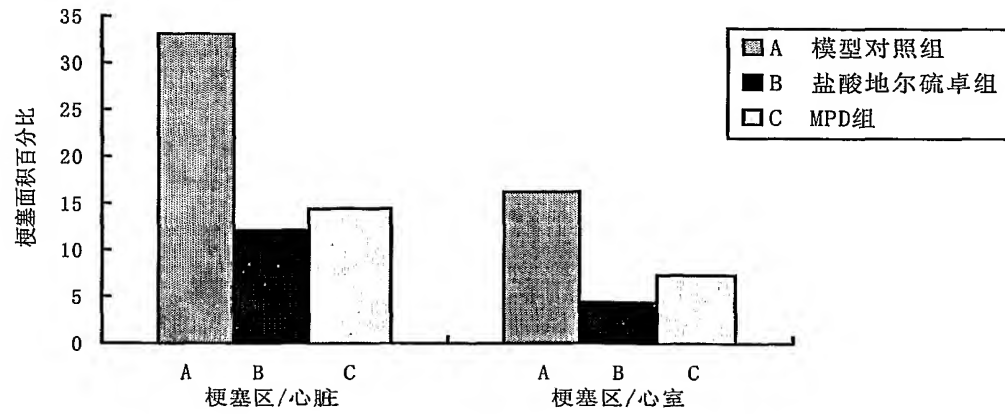


图 3

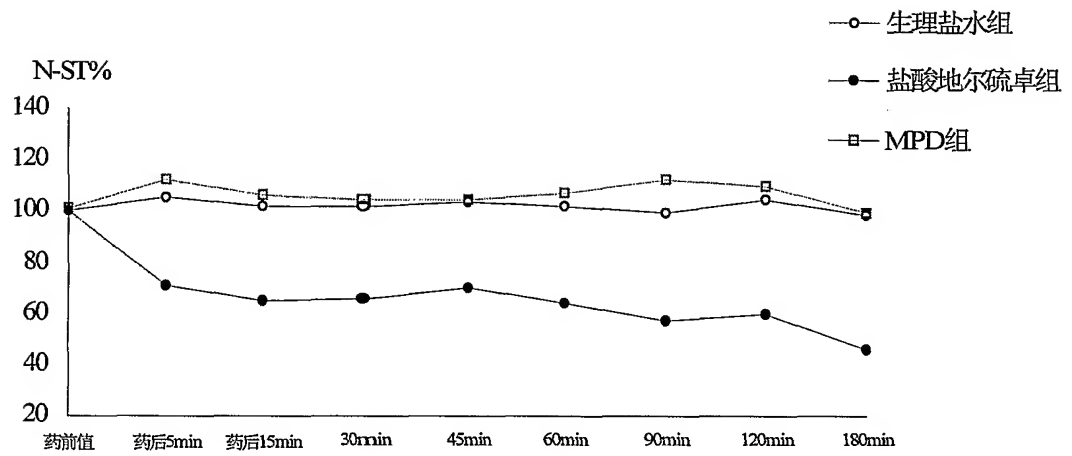


图 4

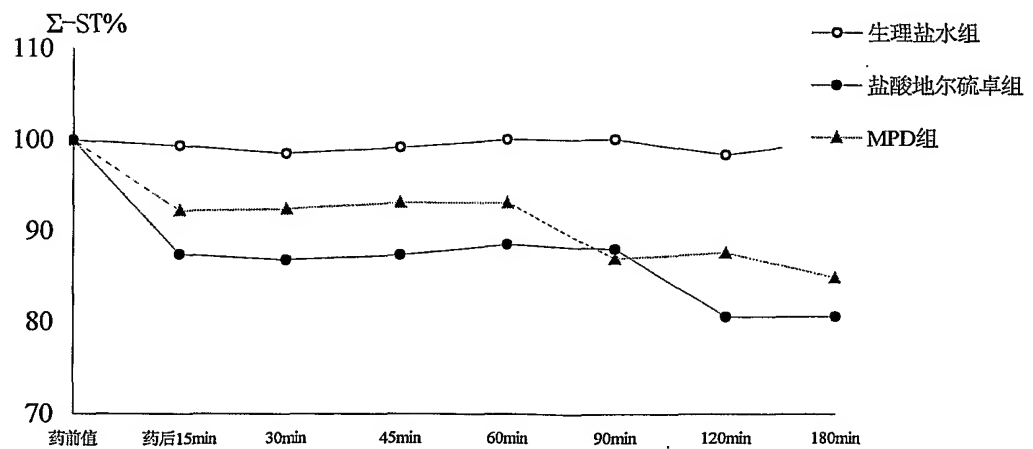


图 5

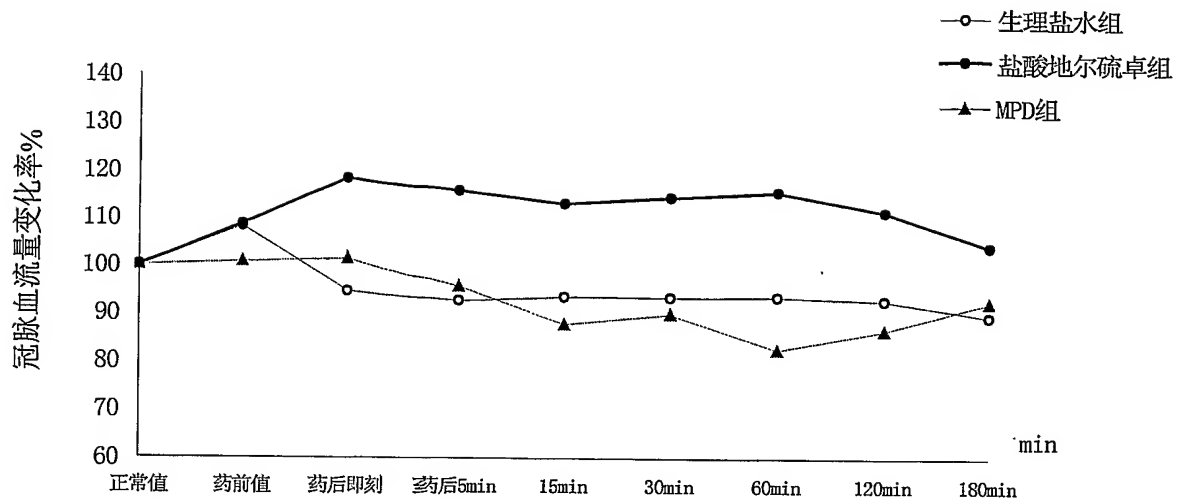


图 6

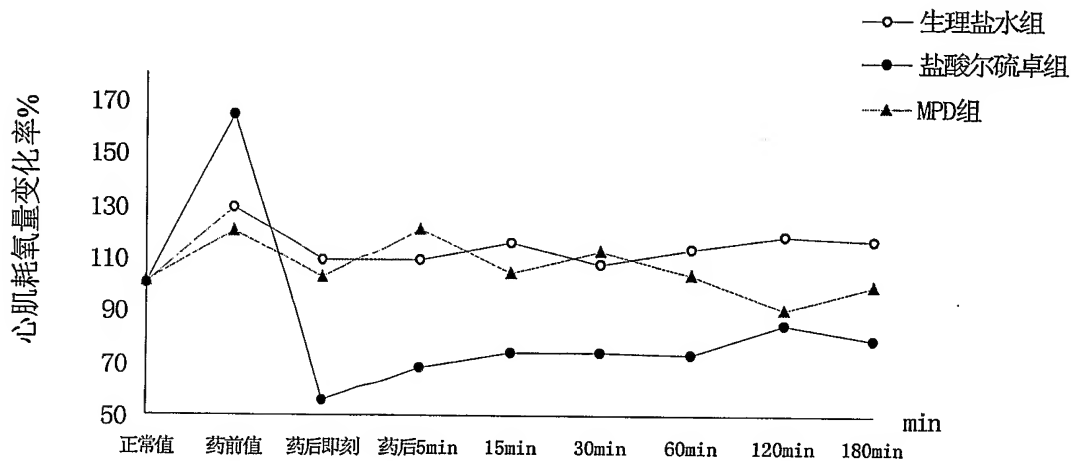


图 7

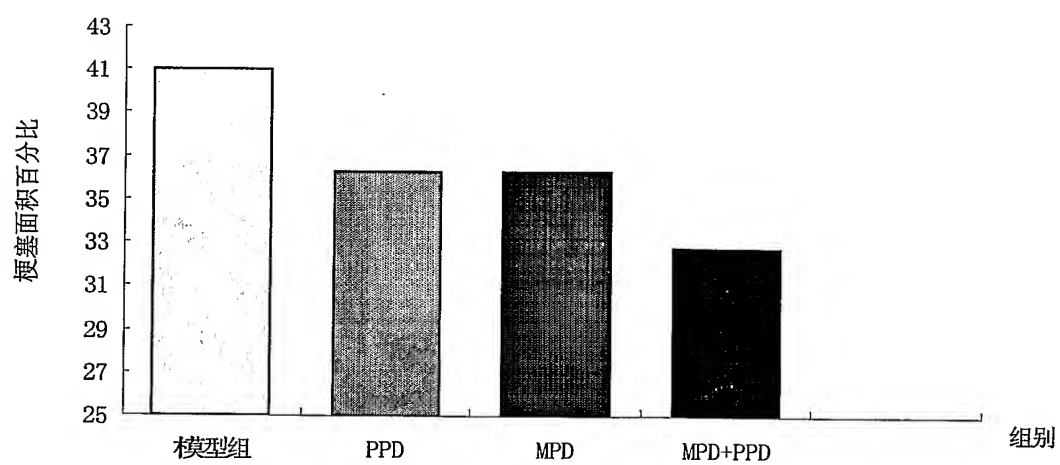


图 8

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/CN2005/000364

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. C<sup>7</sup> CO7J 71/00, A61K 31/7048, A61P 3/06, A61P 9/10, A61P 9/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. C<sup>7</sup> CO7J 71/00, A61K 31, A61P 3, A61P 9

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CPRS, EPODOC, WPI, PAJ, CNKI, CA

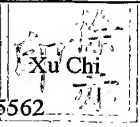
## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X         | Sun, Xuejun et al., "Chemical constituents of rhizome of sheath-stipe greenbrier (Smilax stans)", Zhongcaoyao, 1995, 26(8): 395-6, 399 | 1-5                   |
| X         | Zhang Jian-Bo et al., "Recent progress in research of furostanol saponins", Youji Huaxue, 2000, 20(5): 663-688                         | 1-3                   |
| Y         |  | 1-2,6-7               |
| Y         | CN1415625A, see the whole document, in particular the pages 2-6<br>7. May 2003 (07.05.2003)  | 1-2,6-7               |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

|  |  |
|--|--|
| * Special categories of cited documents:   | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance   | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone   |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date  | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family  |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means   |  |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed   |  |

|  |   |
|--|---|
| Date of the actual completion of the international search<br>2. Jun 2005 (02.06.2005)  | Date of mailing of the international search report<br>30 JUN 2005 (30.06.2005)  |
| Name and mailing address of the ISA/CN<br>The State Intellectual Property Office, the P.R.China<br>6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China<br>100088<br>Facsimile No. 86-10-62019451 | Authorized officer<br><br>Telephone No. 86-10-62085562 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2005/000364

| Patent Documents referred<br>in the Report | Publication Date | Patent Family | Publication Date |
|--|------------------|---------------|------------------|
| CN1415625A                                 | 2003-05-07       | none          |                  |

# 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2005/000364

## A. 主题的分类

Int. C<sup>7</sup> C07J 71/00, A61K 31/7048, A61P 3/06, A61P 9/10, A61P 9/12

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

Int. C<sup>7</sup> C07J 71/00, A61K 31, A61P 3, A61P 9

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CPRS, EPODOC, WPI, PAJ, CNKI, CA

## C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落  | 相关的权利要求 |
|------|--|---------|
| X    | 孙学军等, “鞘柄菝葜化学成分研究”, 中草药, 1995 年第 26 卷第 8 期: 395-6, 399 页               | 1-5     |
| X    | 张剑平等, “呋喃甾烷型皂甙的研究进展”, 有机化学, 2000 年第 20 卷第 5 期: 663-688 页, 尤其是式 II、VIII | 1-3     |
| Y    |  | 1-2,6-7 |
| Y    | CN1415625A, 参见全文, 尤其是第 2-6 页<br>2003 年 5 月 7 日 (07.05.2003)            | 1-2,6-7 |

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2. 6 月 2005 (02.06.2005)

国际检索报告邮寄日期

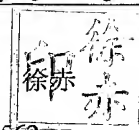
30. 6 月 2005 (30. 06. 2005)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员



电话号码: (86-10)62085562

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2005/000364

| 检索报告中引用的<br>专利文件 | 公布日期       | 同族专利 | 公布日期 |
|------------------|------------|------|------|
| CN1415625A       | 2003-05-07 | 无    |      |